

A kinetikus izotóp módszer (KIM) alkalmazása baktériumok által történő anyagszállítás vizsgálatában

GÁL DEZSŐ és T. VÁGÓ ÉVA

MTA Agrokémiai Kutató Intézet Izotóp Laboratórium, Budapest

Közismert, hogy a talajbaktériumoknak igen nagy szerepe van a növényi táplálkozásban. Számos szerző mutatott már rá pl. a baktériumoknak a talajban végbemenő lebontó és szintetizáló folyamatokban játszott szerepére, valamint a mikroflórának a talaj szerkezetére gyakorolt hatására.

A rádióaktív és stabil izotópok egyre szélesebb körű alkalmazása ezen a területen is nagy léptékkel halad és lehetőséget biztosít az eddigi eredmények, feltevések exakt vizsgálatára. Kirkham és Bartholomew [7], például a talajban levő növényi tápanyagok baktériumok által történő mineralizációjának és mobilizációjának sebességét határozták meg.

Az utóbbi időben merült fel a probléma, hogy a rizoszférában levő talajoldat és a kontakt úton történő táplálékfelvétel csak kis hányadát szolgáltatja a növény valószínű tápanyag felvételének. Hudjakov szerint [5, 6] a tápanyag többi — pontosabban szólva döntő része — a rizoszférán túl eső területről és nem csupán csak a talajoldatnak a transpiráció folytán létrejövő elmozdulása révén kerül a növény gyökereihez. Említett szerző kísérletei alapján arra a megállapításra jut, hogy ezen folyamatban a talajban végbemenő diffúzió csak elenyésző szerepet játszik, a döntő szerep a mikroorganizmusoké. Ez utóbbiak, mint arra Hudjakov kísérletei alapján rámutat, képesek anyagcseréjük mellett a tápanyag transzportban résztvenni, vagyis a növénynek szükséges tápanyagot más, tápanyagban dúsabb helyekről a rizoszférába eljuttatni a növény számára felvehető állapotban. A talajban ennek értelmében a mikroorganizmusok szállító láncokat alkotnak, ami döntően elősegíti a növények tápanyagfelvételét.

Kotelev [8] az előbb említett vizsgálatokból kiindulva [5, 6] szintén foglalkozott a fenti kísérlet igazolásával és vizsgálataiban radioaktív izotópokat is felhasznált, eredményei azonban — elsősorban azért, mert nem vizsgálta a transzport időbeli lefutását — kevésbé értékelhetők a fenti szempontból.

Az irodalomban egyébként számos adatot találunk arra vonatkozóan, hogy élő sejtekben anyagtranszport megy végbe. Csak példaképpen említjük Rosenberg [13, 14], Mitchell [10], Lundegardh [9], valamint Willbrandt [15] dolgozatait. E szerzők az „aktív” transzport problémáját vizsgálták. Aktív transzportnak azt a jelenséget nevezzük, amikor az anyagátvitel nem egyszerű fizikai diffúzió útján valósul meg, hanem azt az anyagcsere, ill. általában a biológiai folyamatok teszik lehetővé, vagyis az anyagmozgás törvényszerűségei ilyen esetekben nem írhatók le az egyszerű diffúziós egyenletekkel. Bár az idézett dolgozatokban nem merül fel az előzőekben felvetett szempont, azaz a növényi tápanyagnak a rizoszférába történő szállítása, azért hivatkozhatunk rájuk, mert az ilyen jellegű folyamatok elvi lehetőségére rámutatnak. Ugyanakkor hangsúlyozzák, hogy a transzport mechanizmusára vonatkozóan ma

még csak igen kevés adat áll rendelkezésünkre. Legvalószínűbb, hogy ezekben az esetekben „hordozó” mechanizmussal kell számolni, amikor is az élősejt valamelyik komponense olyan komplexet képez, ami biztosítja a szubsztrátumnak a sejtfalon való behatolását (Lundegårdh [9]), még akkor is, ha a sejtfal az illető komponensre egyszerű diffúziós úton át nem eresztő. Ez a komplex ugyanígy biztosítja a megfelelő ellentétes folyamatok (pl. disszociáció) útján a sejtből való eltávolozást.

Bár e kérdések igen jelentősek, jelen dolgozat szempontjából csak másodlagos fontosságúak, mivel célunk elsősorban a baktériumok útján történő anyagtranszport néhány quantitativ összefüggésének vizsgálata volt.

Az eddigi — izotópokkal végzett — anyagszállítás vizsgálatok főleg magasabbrendű állatok egyes szerveinek anyagszállítását vizsgálták oly módon, hogy valamilyen jelzett vegyületet juttattak a szervezetbe, a szervezetbe való beépülés után nézték az aktivitás eltűnésének sebességét és ebből következtettek a „turnover”-re (egyes anyagok átalakulási sebességére, ill. élettartamára). A biokémiai rendszerek ilyen jellegű vizsgálatánál másik lehetőség az, hogy a jelzett anyag fázisok közötti (pl. sejtfalon át való) szállításának sebességéből vonnak le következtetéseket. Ez baktériumok esetében csak közvetett mérésekkel és bonyolult kísérletek beállításával volt eddig lehetséges. Egy adott (kémiai vagy biológiai) rendszerben az egyes komponensek fajlagos aktivitásának időbeli változásából többféle módon lehet következtetéseket levonni az illető rendszer sajátosságaira. Az említett ilyen jellegű vizsgálatok során, eltérően a mi kísérleteinktől, elsősorban a „turnover” problémát igyekeztek tisztázni [1, 12] ill. azt, hogy az adott vegyületnek mekkora az élettartama az adott szervezetben.

A kinetikus izotóp módszer alkalmazásával [4, 11] remény nyílik arra, hogy az eddiginél lényegesen több és exaktabb adatot sikerül szerezni a vázolt problémát illetően. Tegyük fel ugyanis, hogy egy adott anyag átalakulása alábbi

$$\frac{dx}{dt} = w - kx \quad 1.$$

egyenlettel írható le, ahol w a képződés, míg kx az illető anyag további bomlásának sebessége. Ha ezen anyagot „jelezzük”, amikor is a fajlagos aktivitása:

$$\alpha = \frac{x^*}{x} \quad 2.$$

akkor a jelzett molekulák koncentráció változását is a fenti alakú egyenlet írja le. Ha ellenben a jelzést a genetikailag már azt megelőző anyagon végezzük el, akkor a stacionárius állapot elérése után:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(\beta - \alpha) \quad 3.$$

ahol β most a megelőző anyag fajlagos aktivitását jelenti. A fajlagos aktivitás változását leíró görbék alakjából a konszekutivitás (tehát az a tény, hogy egy adott aktivitás honnan, illetve kémiai reakció esetén melyik vegyületből kerül a mért helyre), a görbék megfelelő pontjainak adataiból pedig a reakció sebességi állandója, azaz a transzportálás sebességi állandója kiszámítható. Számunkra a legfontosabb a k (konstans) ill. reciprokának, azaz a

$$\tau = \frac{1}{k} = \frac{\beta - \alpha}{d\alpha/dt} \quad 4.$$

meghatározása volt.

A fent ismertetett módszert szerzőik kémiai vizsgálatokban használták elsősorban, amikor is különböző molekulák elemi reakcióinak egyes sajátosságait vizsgálták.

Véleményünk szerint azonban fenti módszer alkalmas makroheterogén folyamatok leírására is.

Tegyük fel ugyanis, hogy az adott mikroorganizmus tápanyagának egyik komponensét jelezzük. A baktérium a tápanyagot felveszi, egy részét feldolgozza (saját vegyületeibe beépíti), majd feldolgozva, illetve egy részét eredeti alakjában, feldolgozatlanul tovább adja. Amennyiben e három részfolyamatot térbelileg sikerül elkülöníteni, akkor a fenti folyamatok elemi reakciók gyanánt foghatók fel, amelyekre az (1—4)-es egyenletek alkalmazhatók lesznek. Ez azt jelenti, hogy a jelzett tápanyag komponens fajlagos aktivitásának változása β , míg a mikroorganizmusra, mint egészre vonatkoztatott fajlagos aktivitás α lesz, melynek változása természetesen mind a bejutás, mind az eltávolítás sebességét is megadja. Fentiekből egyúttal adódik, hogy a τ időjellegű mennyiség, jelen esetben a jelzett vegyület azon komplexének élettartamát jelenti, amelynek segítségével a transzport megvalósul.

A 4. egyenlet adatainak megállapítása a későbbiekben leírt kísérleti módszer alapján felvett görbékből történik.

Kísérleti módszer leírása

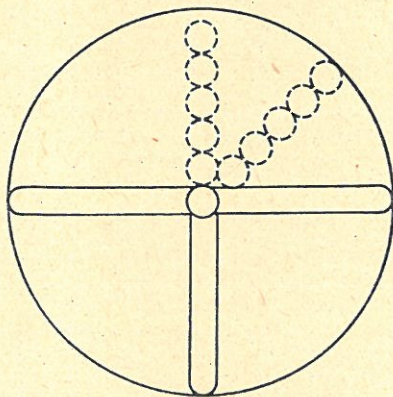
Modell anyagul *Azotobacter chroococcumot* használtunk mannitos agar táptalajon. A táptalaj összetétele: 0,5 g K_2HPO_4 , 0,2 g $MgSO_4$, 0,2 g NaCl, valamint $MnSO_4$, $FeCl_3$, Na_2MoO_4 nyomokban, 2% mannit és 2% agar 1000 ml táptalajra vonatkozóan. Egy 12 cm átmérőjű Petricsészében 30 ml táptalajt jeleztünk $25 \mu C P^{32}$ -vel és ebből 1 cm átmérőjű korongokat vágunk ki, melyet mint kiindulási aktív anyag-gócot az alábbiakban leírt rendszer szerint a Petricsészében levő táptalaj közepére helyeztünk el.

Egy-egy 12 cm \varnothing Petricsészébe 30 ml táptalajt öntöttünk, majd a táptalaj merevedése után kereszt-alakban oltottuk rá a baktérium-csikot. Az inkubálási idő után — mely 5 napig tartott $27^\circ C$ -on, jeleztük a táptalajt. Az aktiválás után az 1., 4., 7., 10. napon mértük a jelzett anyag-góctól sugár irányban az 1, 2, 3, 4 cm távolságban a P^{32} aktivitás alakulását a baktérium-csikon és egyidejűleg a nem oltott csikón, tehát a diffúziós továbbjutást (2. ábra).

A mérésnél alumínium tálkákon előzetes súlymérés után végablakos GM számlálóső segítségével azonos geometriával és visszaszóródással dolgoztunk.

A kísérlet második részében azt vizsgáltuk, hogy a táptalaj különböző mennyiségű K_2HPO_4 koncentrációjától függően hogyan alakul a P^{32} továbbjutása a baktériumcsikon és egyidejűleg diffúziós úton. A táptalaj többi összetevője a fentiekkel azonos maradt. A táptalaj foszfor koncentrációi az alábbiak voltak: I: 0,0, II: normális foszfor koncentráció, III: 0,7 g, IV: 1 g 1000 ml-re vonatkozóan. A kísérlet eredményei négy párhuzamos vizsgálat középpontjából adódnak. A kísérleti eredmények szórása 10—15%-ot tesz ki.

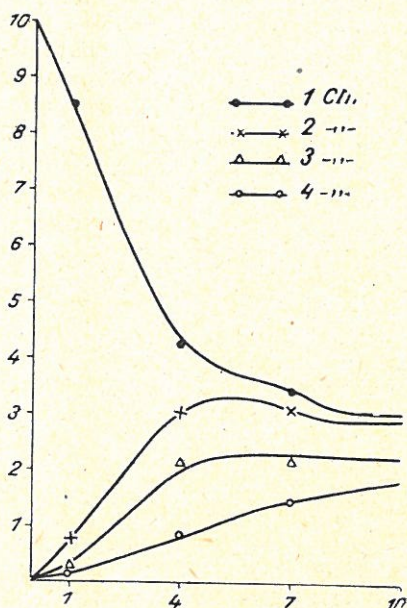
A mérések eredményeit az 1. táblázat tünteti fel, ahol a különböző táptalajokban a középponttól számítottan 1, 2, 3 és 4 cm-re megadtuk az aktivitásokat (bi 1, bi 2,



1. ábra

A kísérlet beállításának és a mintavételnek sematikus rajza

bi 3 és bi 4; bi = biológiai érték). Az egyes méréseknél kapott aktivitás értékeket 1 g anyagmennyiségre számítottuk át, melyekből a megfelelő diffúziós értékeket levontuk és a „bi” értékeit összeadtuk. Az összeget 100 000-rel tettük egyenlővé és ennek törtrészeire számítottuk át az egyes távolságokban mért fajlagos aktivitásokat. Az első táptalaj esetében a negyedik mérés pontjai az aktivitás bevitelétől számított tizedik



2. ábra

A P^{32} szállítása a táptalajban diffúzió útján. Az egyes görbék a jelzés helyétől különböző távolságban elhelyezkedő „rétegek” aktivitásának időbeli alakulását mutatják (abszcissza: idő napokban, ordináta: fajlagos aktivitás százezer törtrészeiben)

tok pontosságának ellenőrzésére a Fick-féle második differenciál egyenlet segítségével kiszámítottuk a diffúziós állandót. Erre felhasználtuk Stefan és Kowalky táblázatait [Cit. in 3]. A kapott eredmény a második táptalajban

$$D = 0,35 \text{ cm}^2/\text{nap} = 4,05 \cdot 10^{-6} \text{ c. g. s.}$$

Figyelembe véve, hogy Cordier [2] zselatinban a P^{32} diffúziójára, teljesen más módszerrel, a diffúziós állandóra $5,28-5,51 \cdot 10^{-6} \text{ c. g. s.}$ -t kapott, az egyezés kitűnőnek mondható, vagyis diffúziós görbéink minden valószínűség szerint helyesek.

Sokkal szemléletesebbek az adatok, ha azokat görbékben adjuk meg.

Minden egyes táptalaj esetén a görbék segítségével elvégeztük a sebességi állandó, illetve annak reciprokának (a komplex élettartamának) kiszámítását. Ezen értékeket a 2. táblázatban adjuk meg.

A táblázatból látható, hogy a 2, 3 és a 4 cm-re vonatkozó értékek a hibahatáron belül megegyeznek, de a foszfor koncentrációjától függően egyértelmű növekedést

napon olyan kis értékeket adtak és ugyanakkor a diffúzióból eredő korrekció a méréshez viszonyítva olyan nagy volt, hogy ezen értékek nem voltak figyelembe vehetők. Meg kell jegyezni, hogy az I. táptalajon, mivel ez teljesen foszformentes volt, illetve csak a jelzett anyagokban lévő foszfor állt a baktériumok rendelkezésére, ezek fejlettsége a szokásosnál gyengébb volt. A negyedik táptalaj első napi mérésénél viszont, a környező táptalaj nagy foszformennyisége miatt, az első mérések mutatnak hibahatáron belüli kis értékeket. A táblázatban látható összes értékeket a diffúzió alapján korrigáltuk. A diffúzió útján történő szállítást az alábbi módon vettük figyelembe. A baktériumcsík mellett minden egyes mérési sorozatban, azaz a különböző foszforkoncentrációk esetén, a közép-ponttól 1, 2, 3 és 4 cm távolságban mértük a fajlagos aktivitást ugyanazon a napon és ugyanabban a rendszerben, melyben a baktériumok aktivitásának a mérése történt. Bár meg lett volna a lehetősége annak, hogy teljesen külön baktériummentes táptalajban határozzuk meg a diffúzió értékeit, eljárásunkat az indokolta, hogy a baktériumok a táptalajra esetleg olyan hatást gyakorolnak, ami befolyásolja a diffúzió nagyságát.

A diffúzióra vonatkozó aktivitási értékeket 10 000 törtrészeiben adtuk meg (2. ábra), ahol az egyes görbék az 1, 2, 3, illetve 4 cm-en mért aktivitás időbeli változását jelzik. Az ada-

1. táblázat

A fajlagos aktivitás időbeli változása különböző táptalajok esetén az aktív centrumtól különböző távolságra

Kiindulási fajlagos aktivitás 0 cm-nél	I. táptalaj				II. táptalaj			
	1 nap	4 nap	7 nap	10 nap	1 nap	4 nap	7 nap	10 nap
	42500	27700	24500	17200	52465	14291	6893	4085
bi 1	55000	29000	18000	—	84701	47100	39160	34083
bi 2	31500	38900	19500	—	14033	28382	27299	24822
bi 3	8700	20000	25000	—	491	19354	23176	20601
bi 4	4000	12900	17000	—	—	4715	11285	20349

Kiindulási fajlagos aktivitás 0 cm-nél	III. táptalaj				IV. táptalaj			
	1 nap	4 nap	7 nap	10 nap	1 nap	4 nap	7 nap	10 nap
	56620	10108	8750	5560	40295	12970	6950	5980
bi 1	79640	44386	37240	33000	77573	51235	48001	31830
bi 2	18848	29443	31727	32000	10000	23000	31000	25000
bi 3	1465	15772	19281	17800	—	16702	19600	26000
bi 4	378	8149	11392	15600	—	4999	4570	14000

2. táblázat

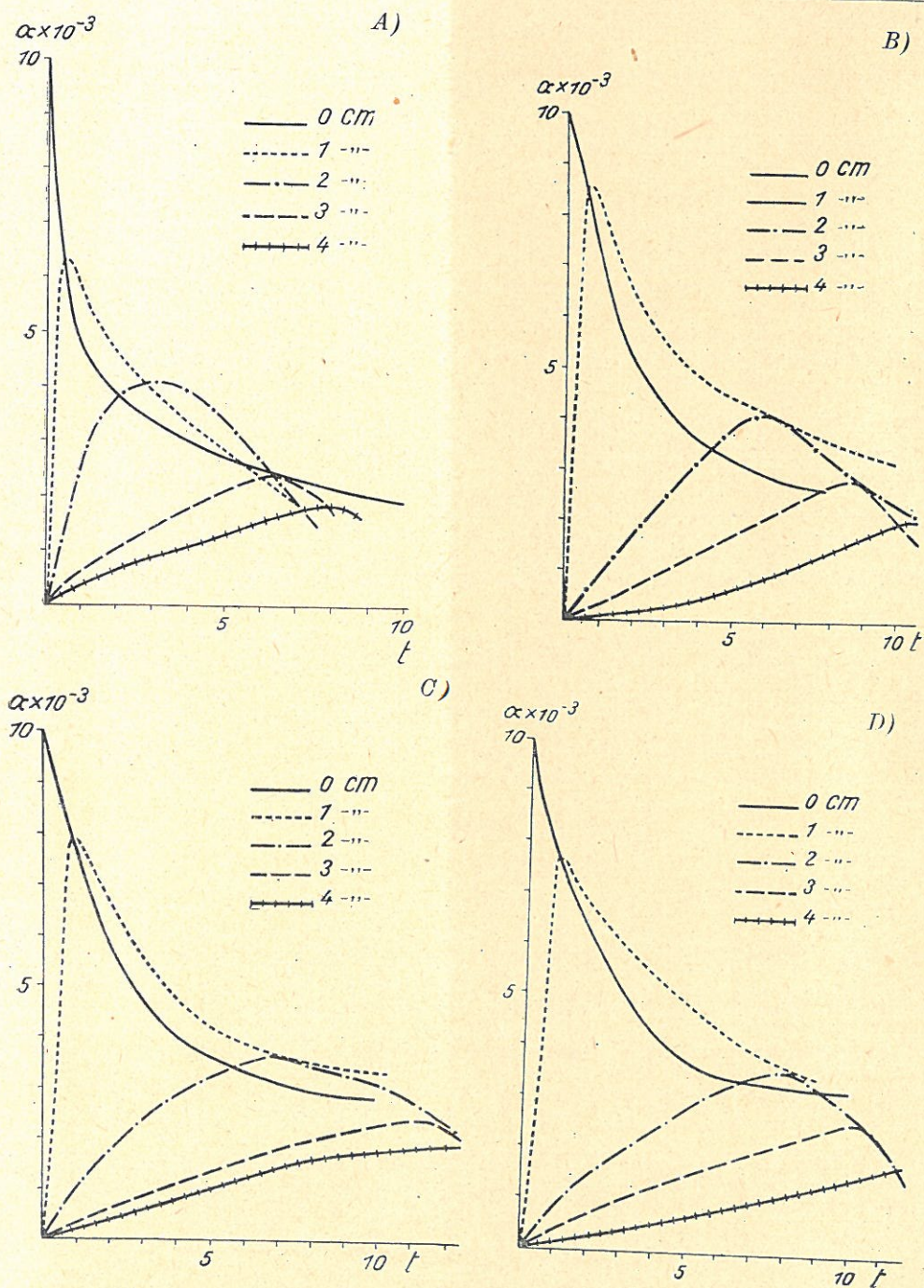
A τ értékei a különböző táptalajokon

cm	I.		II.		III.		IV.	
		átlag		átlag		átlag		átlag
1	0,56		0,48		0,48		0,50	
2	0,89		1,94		3,0		4,8	
3	1,10	1,1	2,30	2,1	2,8	2,9	5,2	5,0
4	1,38		—		2,9		5,1	

mutatnak. Más a helyzet ezzel szemben a bevitel helyétől 1 cm távolságban, ahol a sebességi állandó a foszfor koncentrációtól függetlenül állandó értéket mutat.

Ez más szavakkal azt jelenti, hogy 2 cm-en túl a transzport sebessége lényegesen meglassul és a környezet foszfortartalmával fordítottan arányos. Ez utóbbi tény teljesen érthető.

Nem egészen ilyen egyértelmű azon kísérleti megállapítás, hogy az anyaggóc közvetlen közelében a transzport nagy sebességgel megy végbe, utána azonban hirtelen lecsökken és a kísérleti hibák határain belül állandó értéket ér el (2. táblázat). Ezt a



3. ábra

A baktériumok fajlagos aktivitásának időbeli alakulása a különböző táptalajokon A = I; B = II; C = III; D = IV táptalaj

kísérleti tényt csak úgy tudjuk megmagyarázni, ha feltesszük, hogy a baktériumoknak korlátozott felvevő, illetve transzportáló képessége van.

Ez a gyakorlatban úgy nyilvánul meg, hogy a jelzett tápanyag-góc környezetében levő baktériumokra vonatkozólag a jelzett tápanyag koncentráció különbsége nagy, a baktériumok maguk mintegy kiegyenlítik a koncentráció-különbségeket a távolabbiak számára, maguk azonban kénytelenek nagyobb sebességgel továbbítani a jelzett tápanyagot.

A fentebb vázolt kísérletek természetesen nem adnak feleletet arra vonatkozóan, hogy milyen a transzport mechanizmusa, tehát azt sem tudjuk meg belőlük, hogy a jelzett foszfát változatlan állapotban halad-e át a „baktérium-láncon”; létesülnek-e ideiglenesen kötött komplexek, megvalósulhat-e az anyagátvitel bizonyos anyagcsere köztermékek útján, vagy sem. E kérdés eldöntéséhez, a jelzett anyagok alkalmazásán túlmenően, részletes kémiai analízisre és papírkromatográfiás vizsgálatokra van szükség. Ilyen típusú vizsgálatok beállítása laboratóriumunkban folyamatban van. Más szerzők kísérletei minden esetre arra mutatnak [13], hogy ez a típusú „aktív” transzport lényegében változatlan tápanyag molekulákkal valósul meg, feltehetően valamilyen belső adszorpciós komplex révén.

Vizsgálataink további célja még, hogy megállapítsuk ezen viszonyok alakulását, elzett műtrágyaféleségek (szuperfoszfát, stb. esetén).

Befejezésül szeretnénk ezúton is köszönetünket kifejezni di Gléria János professzor úrnak, aki állandó tanácsaival nagymértékben elősegítette munkánk eredményességét.

Összefoglalás

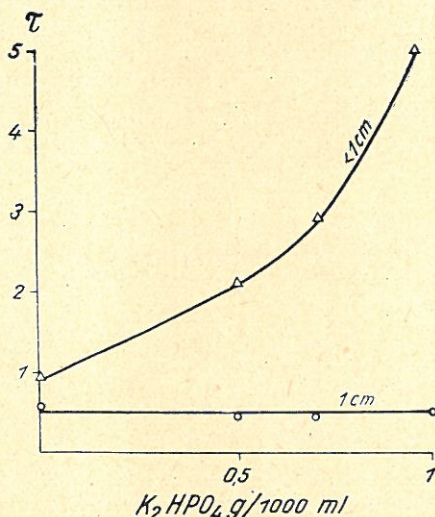
1. Alkalmaztuk a kinetikus izotóp módszert (KIM) *Azotobacter chroococcum* által történt tápanyag transzport meghatározására.

2. A P^{32} -vel jelzett tápanyagok fajlagos aktivitásának időbeli alakulásából kiszámítottuk e vegyületek transzportjának sebességi állandóját. Ezen értékek arra mutatnak, hogy az anyagcsere folyamatokkal egyidőben minden valószínűség szerint egy „aktív anyagtranszport”-nak nevezhető folyamat is lezajlik.

Érkezett: 1957. május 10.

Irodalom

- [1] Comar, C. L.: Radioisotopes in biology and agriculture. McGraw-Hill, New York. 1955.
- [2] Cordier, S.: Pbs. Sci. Techn. Min. Air. France. 57. 71. 1956.
- [3] Erdely-Grúz, T. & Proszty, J.: Fizikai-kémiai praktikum. Tankönyvkiadó. Budapest. 1952.
- [4] Gorodinszkaja, G. Ja., Nejman, M. B., Ribakova, Sz. I. & Snoll, R. B.: Dokladi Akad. Nauk SSSR. 69. 833. 1949.



4. ábra

r változása a tápanyag foszfor koncentrációjával különböző távolságban

- [5] *Hudjakov, Ja. P.*: Trudi konferencii po voprosam pocsvennoi mikrobiologii sz vnedrenniem v szelszkoje hozjasztvo kompleksza. Dokucsajeva—Koszticseva—Viljamsza. 1. 184. 1953.
- [6] *Hudjakov, Ja. P.*: Trudi konferencii po mikotrofil rasztienii. Szel'hozgiz. Moszkva. 1955.
- [7] *Kirkham, D. & Bartholomew, W. V.*: I—II. Soil. Sci. Soc. Amer. Proc. 18. 33. 1954; 19. 189. 1955.
- [8] *Kotelev, V. V.*: Sz'tuplenije foszfora P³² v kletki mikroorganizmov. Szel'hozgiz. Moszkva. 1955.
- [9] *Lundegardh, H.*: Symp. Soc. Exp. Biol. 8. Active Transport and Secretion. 262. 1954.
- [10] *Mitch II, Ph.*: Symp. Soc. Exp. Biol. 8. Active Transport and Secretion. 254. 1954.
- [11] *Nejman, M. B.*: Zsurn. Fiz. Him. SSSR 28. 1235. 1954.
- [12] *Reiner, J. M.*: I—II. Arch. Biochem. Biophys. 46. 53, 80. 1953.
- [13] *Rosenberg, T.*: Symp. Soc. Exp. Biol. 8. Active Transport and Secretion. 27. 1954.
- [14] *Rosenberg, T. & Wilbrandt, W.*: Exp. Cell. Res. 49. 1955.
- [15] *Wilbrandt, W.*: Symp. Soc. Exp. Biol. 8. Active Transport and Secretion. 136. 1954.

ПРИМЕНЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКОГО ИЗОТОПНОГО МЕТОДА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПЕРЕНОСА ВЕЩЕСТВ БАКТЕРИЯМИ

Д. Гал и Е. Т. Варо

Научно-Исследовательский Институт Агрохимии Академии Наук Венгрии, Будапешт

Резюме

В модельных опытах изучали способность микроорганизма *Azotobacter chroococcum* на перенос питательных веществ. В качестве питательного вещества использовали Na₂HPO₄ меченый P³², и измеряли изменение удельной активности микроорганизмов, расположенных на различных расстояниях от очага — питательного вещества. (Диффузия происходящая в питательной среде была принята во внимание.)

Оценка полученных опытных данных проводилась с помощью кинетического изотопного метода, при использовании которого, зная исходное вещество, содержащее активное соединение, а также изменение удельной активности микроорганизмов во времени, можем вычислять скорость переноса меченого соединения.

Опытные данные показывают, что одновременно с процессами обмена веществ, по всей вероятности, одновременно происходит процесс «активного переноса вещества».

Рис. 1. Схема постановки опыта и взятий образцов.

Рис. 2. Перенос P³² в питательной среде путем диффузии. Отдельные кривые показывают изучение активности по времени отдельных «слоев», расположенных на различных расстояниях от внесения меченых соединений. (Абсцисса: дни, ордината: Удельная активность, общая активность, взята за 100.000).

Рис. 3. Изменение удельной активности по времени на различных питательных средах (обозначение как на рисунке 2.).

Рис. 4. Изменение величины τ в зависимости от концентрации фосфора на различных расстояниях питательной среды.

Таблица 2. Величина τ на различных питательных средах.

Application of the Kinetical Isotopic Method (KIM) for the Investigation of Material Transport by Bacteria

D. GÁL and Mrs. É. T. VÁGÓ

Institute of Agrochemical Research of the Hungarian Academy of Sciences
Budapest

Summary

Model experiments were carried out to establish whether *Azotobacter chroococcum* is capable of transporting nutrients. Na₂HPO₄ containing P³² as tracer was applied as nutrient, and the changes against time of the specific activity of microorganisms located at various distances from the nutrient centre were plotted (considering also the diffusion process taking place in the nutrient medium).

Experimental data were evaluated by the so-called kinetical isotopic method. By this way the rate of transport of the labeled compound can be calculated, provided the changes of the starting centre of nutrient and of the specific activity of microorganisms against time are known.

The experimental results indicate that simultaneously with processes of metabolism also apparently a process which may be called as "active substance transport" proceeds.

Fig. 1. Scheme of experiments and of method of sampling.

Fig. 2. Transport of P^{32} in the nutrient medium by diffusion. The curves show the changes in the activity of "layers" at different distances from the examined point as a function of time (abscissa: time, days, ordinate: specific activity in fractions of 100 000th.

Fig. 3. Specific activities of bacteria on various nutrient media, plotted against time (ordinates as in Fig. 2).

Fig. 4. Values of τ plotted against the phosphorus concentration of nutrient, at various distances.

Table 1. Changes in specific activity of various nutrients at different distances from the active centre, as a function of time elapsed.

Table 2. Values of τ various nutrients.

Application de la méthode cinétique des isotopes pour l'étude du transport de matières par les bactéries

D. GÁL et Mme. É. T. VÁGÓ

Institut des Recherches Agrochimiques de l'Académie des Sciences Hongroise, Budapest

Résumé

Les auteurs ont étudié dans des expériences avec des modèles la question est-ce que le microorganisme *Azotobacter chroococcum* est capable de transport de matière. Comme substrat ils ont employé du Na_2HPO_4 marqué avec ^{32}P et ils ont mesuré le changement dans le temps de l'activité spécifique des microorganismes se trouvant à différentes distances des centres de matière nutritive (en tenant compte de la diffusion s'effectuant dans le milieu nutritif).

L'évaluation des données des expériences s'est faite par la méthode dite „méthode cinétique des isotopes”, à l'aide de laquelle l'on peut calculer la vitesse du transport de la combinaison marquée, si l'on connaît le changement avec le temps de l'activité spécifique du foyer de départ renfermant la matière active et celui du microorganisme.

Les données des expériences indiquent que, en même temps avec les processus métaboliques, il y a lieu aussi selon toute probabilité, un processus que l'on peut nommer „transport de matière active”.

Fig. 1. Dessin schématique de la disposition de l'expérience et de la prise d'échantillons.

Fig. 2. Le transport par diffusion du ^{32}P dans le milieu nutritif. Les courbes montrent l'évolution dans le temps de l'activité des „couches” disposées à des distances différentes du foyer marqué (abscisse: temps en jours, ordonnée: activité spécifique, en fonction de cent millièmes).

Fig. 3. L'évolution dans le temps de l'activité spécifique des bactéries sur divers milieux nutritifs (ordonnées comme fig. 2).

Fig. 4. Changement de τ avec la concentration en phosphore du milieu à différentes distances.

Tableau 1. Changement temporaire d'activité spécifique sur divers milieux nutritifs et à différentes distances du centre actif.

Tableau 2. Valeurs de τ sur les différents milieux nutritifs.

Anwendung des Kinetischen Isotopen Methode für die Untersuchung des Materialtransportes durch Bakterien

D. GÁL und Frau É.T. VÁGÓ

Forschungsinstitut für Agrochemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Die Versuchssteller haben in Modellversuchen untersucht ob das Kleinlebewesen *Azotobacter chroococcum* zum Materialtransport fähig ist. Als Nährsubstrat haben sie mit P^{32} markierten Na_2HPO_4 angewendet und sie haben gemessen die zeitliche Veränderung der spezifischen Aktivität der sich vom Herd des Nährstoffes in verschiedenen Entfernungen befindenden Bakterien (die Diffusion im Nährsubstrat in Rechnung nehmend).

Die Auswertung der Resultate der Versuche ist mit der sogenannten Kinetischen Isotopen Methode geschehen, durch die man die Geschwindigkeit des Transportes der markierten Verbindung ausrechnen kann, falls man die zeitliche Veränderung der spezifischen Aktivität des aktiven Ausgangsmaterials sowie der Bakterien kennt.

Die Versuchsergebnisse deuten darauf dass gleichzeitig mit der Materialaustauschvorgängen mit hoher Wahrscheinlichkeit auch ein als „aktiver Materialtransport“ bezeichnbarer Vorgang sich abspielt.

Fig. 1. Skizze der Einstellung des Versuches und der Probenahme.

Fig. 2. Transport durch Diffusion des P^{32} im Nährsubstrat. Die einzelnen Kurven zeigen die zeitliche Ausbildung der Aktivität der sich in verschiedenen Entfernungen von der markierten Stelle befindlichen „Schichten“ (Abscisse: Zeit in Tagen, Ordinate: spezifische Aktivität in 100,000-ten Bruchteilen.)

Fig. 3. Die zeitliche Ausbildung der spezifischen Aktivität der Bakterien auf verschiedenen Nährsubstraten (Koordinaten wie bei Fig. 2.)

Fig. 4. Veränderung des τ mit der Phosphor-Konzentration des Nährsubstrates.

Tafel 1. Zeitliche Veränderung der spezifischen Aktivität auf verschiedenen Nährböden bei verschiedenen Entfernungen vom aktiven Centrum.

Tafel 2. Die Werte von τ auf verschiedenen Nährsubstraten.